

SCHISTOSOMA MANSONI

Immuno-enzymatische test voor de diagnose bilharziose bij mensen

96 testen op afscheurbare stripjes bedoeld voor in vitro gebruik

Instructies voor het gebruik van het artikel N° 9600
N° CE: H-CH/CA01/IVD/17983



Wordt gebruikt voor:

Serologische diagnose (IgG) van bilharziose bij patiënten, verbleven in endemische gebieden en die in contact zijn geweest met zoetwater en dit tijdens de invasieve fase wanneer weinig of geen excretie is van eieren. Deze test wordt ook bij medereizigers van geïnfecteerde personen met bilharziose en bij post therapeutische controle.

Principe en presentatie:

De kit bevat het materiaal wat nodig is voor 96 gekoppelde immuno-enzymatische testen (ELISA test) op deelbare stripjes die gesensibiliseerd zijn met het **Schistosoma mansoni** oplosbare antigenen. De aanwezigheid van specifieke anti-lichamen tegenover het parasitaire antigen wordt gedetecteerd met een Proteïne A - Alkaline fosfatase conjugaat. De gesensibiliseerde strips met de individuele test cupjes maken het mogelijk op een economische wijze kleine hoeveelheden monsters te testen.

Materiaal aanwezig in de kit (96 tests):

WELL	9600-01	Deelbare ELISA strips gesensibiliseerd met oplosbare antigenen van Schistosoma mansoni	96	putjes
DILB	9600-02	Verdunningsvloeistof (10X geconcentreerd)	50	ml
WASH	9600-03	Wasvloeistof (10X geconcentreerd)	50	ml
ENZB	9600-04	Enzyme buffer	50	ml
STOP	9600-05	Stop oplossing (K ₃ PO ₄)	25	ml
CONTROL -	9600-06	Negatief controle serum	200	µl
CONTROL -/+	9600-07	Zwak positief controle serum (drempel)	200	µl
CONTROL +	9600-08	Positief controle serum	200	µl
CONJ	9600-09	Proteïne-A Alkaline fosfatase conjugaat	300	µl
SUBS	9600-10	Fosfatase substraat	20	tabletten
		Reservoir voor de reactieven voor 25 ml multi pipetten	1	stuk
		Kader voor ELISA 8 cupjes houder	1	kader

Bewaar condities:

Bewaar de kit tussen 2 en 8° C (transport op kamer temperatuur). De vervaldatum en het productie nummer staat gedrukt op de doos.

Nodig materiaal niet geleverd met de kit:

Pipetten (μl en ml), bakjes, tubes voor de verdunning van de sera. Plakband om de cupjes te bedekken gedurende de incubaties. Gedestilleerd water. Incubator afgesteld op 37°C . ELISA lezer afgesteld op 405 nm.

Voorbereiding van de reactieven:

Gesensibiliseerde strips: Open de zijkant van het aluminium zakje en neem de nodige strips er uit. Plaats de gesensibiliseerde strips in de 8 cupjes houder. Zo nodig markeer de posities van de ongebruikte cupjes met de gebruikte cupjes. Plaats de houder in de lijst in de goede richting. Conserveer de niet gebruikte strips in de goed gesloten verpakking met het silicagel kussentje.

Verdunningsvloeistof: Verdun de geconcentreerde (10x) verdunningsvloeistof 9600-02, 1:10 in gedestilleerd water.

Wasoplossing: Verdun de geconcentreerde (10x) wasoplossing 9600-03, 1:10 in gedestilleerd water. Zo gewenst kunt U ook uw eigen wasoplossing gebruiken. Buffers die fosfaten bevatten moeten vermeden worden om de enzymatische activiteit van de fosfatase niet te verhinderen.

Negatief controle serum, zwak positief (drempel) en positief serum: Verdun 10 microliters controle serum 9600-06 tot 08 in 190 microliters verdunning vloeistof (eind verdunning 1/20).

De te testen sera: Verdun 10 microliters serum in 2.0 ml verdunning vloeistof (1/20).

Protein A-alkaline fosfatase conjugaat: Verdun het conjugaat 9600-09 in TBS-tween 1:51.

Substraat oplossing: Breng de onverdunde enzyme buffer 9600-04 op kamertemperatuur. Voeg het substraat toe in de ELISA cupjes, los de fosfaat-substraat tabletjes (9600-10) op. Eén tabletje in 2.5ml buffer (9600-04). Goed mengen tot dat de tabletjes goed opgelost zijn.

Stopoplossing: Gebruik reagent 9600-05 onverdund.



Waarschuwing: Soluties 9600-02, 9600-03, 9600-04 en 9600-09 bevat respectievelijk 0.1%, 0.01%, 0.05%, 0.01% et 0.1% sodium azide (N_3Na). Oplossing 9600-02 bevat 0.02% merthiolaat. De stopoplossing 9600-05 (0.5 M K_3PO_4) is irriterend.

De negatieve, zwak positieve en positieve sera (9600-06 tot 08) zijn afkomstig van konijnen.

Maak de volgende oplossingen:

			Totaal aantal te gebruiken cupjes			
			3-4	5-6	7-8	9-10
Verdunning vloeistof (10 x)	9600-02 + H_2O	ml + ml	1 + 9	2 + 18	3 + 27	4 + 36
Wasoplossing (10 x)	9600-03 + H_2O	ml + ml	1 + 9	2 + 18	3 + 27	4 + 36
Conjugaat	9600-09 +verdunningsvloeistof	μl + μl	10 + 500	15 + 750	20 + 1000	25 + 1250
Controle sera	9600-06 tot -08 + verdunningsvloeistof	μl + μl	10 + 190	10 + 190	10 + 190	10 + 190
Te testen sera	Serum + verdunningsvloeistof	μl + μl	10 + 2000	10 + 2000	10 + 2000	10 + 2000
Substraat	9600-10 + 9600-04	tabl. + ml	1 + 2.5	1 + 2.5	1 + 2.5	1 + 2.5

Methode:

Stap 1: Blokkage:

Vul de cupjes met verdunning vloeistof.

Incubeer 5 tot 15 minuten op kamer temperatuur (Blokkage).

Verwijder de verdunningsvloeistof door afzuigen of uitkloppen van de strips in de gootsteen.

Stap 2: Incubatie met serum van de monsters:

Vul het eerste cupje van de eerste strip met 100 microliters verdunningsvloeistof (geen serum, blanco).

Vul de volgende 3 cupjes met 100 microliter verdund negatief, zwak positief (drempel) en positief serum.

Vul de andere cupjes met de te testen verdunde sera (100 microliter).

Bedek de cupjes met plakband en incubeer 30 minuten op 37°C.

Verwijder de sera en was 4x met wasoplossing.

Stap 3: Incubatie met conjugaat:

Verdeel 100 microliter Protein A-Alkaline fosfatase conjugaat in elk cupje.

Bedek met plakband en incubeer 30 minuten op 37°C.

Verwijder het conjugaat en was 4x met de wasoplossing.

Stap 4: Incubatie met substraat:

Verdeel 100 microliter substraatoplossing per cupje.

Bedek de cupjes met plakband en incubeer gedurende 30 minuten op 37°C.

Stop de reactie door toevoeging van 100 microliter stopoplossing in elk cupje.

Stap 5: Meting van de absorptie:

Droog de onderkant van de strips, verwijder luchtbelletjes en meet de absorptie op 405 nm.

Interpretatie van de resultaten:

De gemeten waarden van de blanco (alleen verdunningsvloeistof, geen serum) wordt van alle andere gemeten waarden afgetrokken. De test wordt betrouwbaar geacht als die aan de volgende criteria voldoet: Absorptie (A) van de positieve controle > 1.200, A van de negatieve controle < 8% van A van de positieve controle en A van de blanco tegen over lucht < 0.350.

De titer van het zwak positief serum 9600-07 (drempel) wordt bepaald om het verschil tussen klinisch gedocumenteerde gevallen van bilharziose en normaal menselijk serum optimaal vast te stellen.

Het resultaat is **negatief** wanneer de absorptie van het geanalyseerde monster lager is dan de absorptie van het zwak positief serum 9600-07. In dat geval is de titer van de IgG anti-lichamen tegen **Schistosoma mansoni** oplosbare antigenen niet klinisch significant.

Het resultaat is **positief** wanneer de absorptie van het geteste monster hoger is dan de absorptie van de zwakke positieve controle 9600-07. In dat geval is de titer van de IgG anti-lichamen tegen **Schistosoma mansoni** oplosbare antigenen normalerwijze significant. Bij de resultaten van de test dient men rekening houden met kruis-reactie van andere parasitaire infecties, en de klinische symptomen en de endemische situatie.

Sensibiliteit en specificiteit van de test:

De test detecteert ook *Schistosoma haematobium*.

Een gevoeligheid van 94% werd geobserveerd bij 80 patiënten met een parasitologisch bewezen Bilharziose. (34/37 *Schistosoma mansoni*, 26/27 *Schistosoma haematobium* en 2/3 gemengde infecties) of een positieve serologie met een western-blot (13/13).

Een specificiteit van 99% werd geobserveerd bij 122 Zwitsers bloed donoren.

Een specificiteit van 94% werd geobserveerd bij 141 patiënten groepen geïnfecteerd met andere parasitosen. Amibiase (0/8), Strongyloïdose (0/13), Cysticercose (0/3), Distomatose (0/5), Filariose (3/21) Hydatidose (1/27), Leishmaniose (3/11), Toxocariose (0/5), Toxoplasmose (1/20) en Malaria (0/19).

Een interne evaluatie heeft aangetoond dat lipemische, icterische of gehemolyseerde sera geen invloed hebben op de resultaten van de test.

De herhaalbaarheid werd geëvalueerd door het testen van 2 menselijke sera in 24 cupjes in één enkel experiment. De reproduceerbaarheid werd geëvalueerd door het testen van 2 monsters bij 10 verschillende experimenten.

	Herhaalbaarheid		Reproduceerbaarheid	
	Monster 1	Monster 2	Monster 1	Monster 2
Gemiddeld (absorptie, A)	0.412	1.249	0.407	1.246
Standaardafwijking (absorptie, A)	0.031	0.067	0.029	0.076
Variatie Coëfficiënt (%)	7.6	5.3	7.1	6.1

Referenties:

Doenhoff, M.J., Wheeler, J.G., Tricker, K., Hamilton, J.V., Sturrock, R.F., Butterworth, A.E., Ouma, J.H., Mbugua, G.G., Kariuki, C. and Koech, D. (2003) The detection of antibodies against *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens (SEA) and CEF6 in ELISA, before and after chemotherapy. *Ann Trop Med Parasitol*. **97**:697-709.

Turner, P., Lalloo, K., Bligh, J., Armstrong, M., Whitty, C.J.M., Doenhoff, M.J., Chiodini, P.L. (2004) Serological speciation of human schistosome infections by ELISA with a panel of three antigens. *J Clin Pathol*. **57**:1193-1196.

Sorgho, H., Bahgat, M., Poda, J., Song, W., Kristen, C., Doenhoff, M.J., Zongo, I., Ouédraogo, J., Ruppel, A. (2005) Serodiagnosis of *Schistosoma mansoni* infections in endemic area of Burkina Faso: performance of several immunological tests with different parasite antigens. *Acta Tropica*. **93**:169-180.

Houzé, S., Genoux, F., Eisélé, L., Hance, P., Vaslin, L. and Le Bras, J. (2007) Evaluation of a novel Elisa for schistosomiasis serology. *Physiopathology of intracellular parasitic diseases at the 1st three countries joint meeting (French, German and Swiss)*. Strasbourg.



BORDIER AFFINITY PRODUCTS SA

Bâtiment Biokema, Chatanerie 2, CH-1023 Crissier, Switzerland.

Phone: + 41 21 633 31 67, Fax: + 41 21 633 31 78, www.bordier.ch

